

## NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH CÁC HỢP CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA DỊCH TRÍCH LY TRÀ VỎ CAM SÀNH (*Citrus nobilis*) TRONG ĐIỀU KIỆN *in vitro*

Đặng Chí Thiện<sup>1,✉</sup>, Nguyễn Hữu Thanh<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Trung tâm Ứng dụng tiến bộ Khoa học và Công nghệ Cần Thơ

<sup>2</sup> Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Xác định các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trà được làm từ vỏ cam sành (*Citrus nobilis*) trồng tại Cần Thơ, Việt Nam thông qua việc đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa, chống viêm và ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase của dịch trích ly trà vỏ cam sành.

**Phương pháp:** Trà được định tính một số hợp chất có hoạt tính sinh học và định lượng polyphenol tổng số, flavonoid tổng số. Khả năng kháng oxy hóa được xác định bằng hiệu suất bắt gốc tự do thông qua phản ứng với DPPH và ABTS cùng với năng lực khử sắt (FRAP). Khả năng chống viêm *in vitro* được khảo sát thông qua hoạt động ức chế sự biến tính protein. Xác định tác dụng ức chế đối với enzyme  $\alpha$ -amylase bởi dịch trích ly trà thông qua phản ứng màu của iod-tinh bột.

**Kết quả:** Phân tích chỉ ra có sự hiện diện của các hợp chất có hoạt tính sinh học trong dịch trích ly trà vỏ cam sành bao gồm alkaloid, flavonoid, phenolic, saponin, terpenoid và tannin. Hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số lần lượt là  $16,03 \pm 1,22$  mg GAE/g dịch trích ly trà và  $35,67 \pm 1,18$  mg QE/g dịch trích ly trà. Hoạt tính kháng oxy hóa được xác định bằng phương pháp DPPH, ABTS và FRAP cho thấy giá trị  $IC_{50}$  lần lượt là  $244,70 \pm 2,78$   $\mu$ g/mL,  $319,66 \pm 2,88$   $\mu$ g/mL và  $228,75 \pm 2,69$   $\mu$ g/mL. Hơn nữa, dịch trích ly trà cũng thể hiện hoạt tính chống viêm trong điều kiện *in vitro* tốt, với giá trị  $IC_{50}$  là  $469,79 \pm 3,16$   $\mu$ g/mL. Ngoài ra, dịch trích ly trà cũng thể hiện khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase trong điều kiện *in vitro* với giá trị  $IC_{50}$  là  $1105,26 \pm 1,32$   $\mu$ g/mL.

**Kết luận:** Trà vỏ cam sành chứa rất nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học quan trọng có lợi cho sức khỏe con người, chúng vẫn tồn tại khi chế biến vỏ cam sành thành trà và dịch trích ly trà vỏ cam sành cũng thể hiện các hoạt tính sinh học. Vỏ cam sành có thể được sử dụng cho ngành công nghiệp thực phẩm nhằm nâng cao giá trị cho cam sành.

**Từ khóa:** kháng oxy hoá, chống viêm, ức chế  $\alpha$ -amylase, trà vỏ cam sành, hợp chất có hoạt tính sinh học.

## DETERMINATION OF BIOREACTIVE COMPOUNDS IN THE CITRUS PEEL TEA EXTRACT (*Citrus nobilis*)

### ABSTRACT

**Aims:** To determine the bioreactive compounds in tea made from the peel of *Citrus nobilis* grown in Can Tho, Viet Nam through assessing antioxidant, anti-inflammatory activities, and  $\alpha$ -amylase enzyme inhibition of *C. nobilis* peel tea.

**Methods:** The peel of *Citrus nobilis* tea was qualitatively analyzed for certain bioactive compounds and quantitatively for total polyphenols and total flavonoids. Antioxidant activity was determined by free radical scavenging

✉ Tác giả liên hệ: Đặng Chí Thiện  
Email: dcchien@cantho.gov.vn  
Doi: 10.56283/1859-0381/741

Nhận bài: 25/7/2024    Chính sửa: 9/8/2024  
Chấp nhận đăng: 27/9/2024  
Công bố online: 28/9/2024

efficiency through reactions with DPPH and ABTS, along with ferric reducing antioxidant power (FRAP). In vitro anti-inflammatory activity was investigated through protein denaturation inhibition. Inhibition of  $\alpha$ -amylase enzyme was assessed by the peel of *Citrus nobilis* tea extract through the iod-starch color reaction.

**Results:** Results showed that there are the presence of bioactive compounds in the *Citrus nobilis* peel tea extract, including alkaloids, flavonoids, phenolics, saponins, terpenoids, and tannins. The total polyphenol and total flavonoid content were  $16.03 \pm 1.22$  mg GAE/g peel of *Citrus nobilis* tea extract and  $35.67 \pm 1.18$  mg QE/g peel of the *Citrus nobilis* tea extract, respectively. Antioxidant activity determined by DPPH, ABTS, and FRAP methods showed  $IC_{50}$  values of  $244.70 \pm 2.78$   $\mu$ g/mL,  $319.66 \pm 2.88$   $\mu$ g/mL, and  $228.75 \pm 2.69$   $\mu$ g/mL, respectively. Furthermore, the peel of the *Citrus nobilis* tea extract also exhibited significant *in vitro* anti-inflammatory activity, with an  $IC_{50}$  value of  $469.79 \pm 3.16$   $\mu$ g/mL. Additionally, the the *Citrus nobilis* tea extract demonstrated  $\alpha$ -amylase enzyme inhibition *in vitro* with an  $IC_{50}$  value of  $1105.26 \pm 1.32$   $\mu$ g/mL.

**Conclusion:** *Citrus nobilis* peel tea contains many important bioactive compounds beneficial to human health, which remain intact when processing the peel into tea. The *Citrus nobilis* peel extract also exhibits biological activities. The peel of *Citrus nobilis* can be used in the food industry to enhance the value of *Citrus nobilis*.

**Key words:**  $\alpha$ -amylase inhibitory, antioxidant, anti-inflammatory, bioactive compounds, *Citrus nobilis* peel tea.

-----

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cam sành (*Citrus nobilis*) là một trong những loại cây có múi chủ yếu được sử dụng làm nước ép tươi hoặc sản xuất đồ uống đóng hộp. Ngoài việc sử dụng phần múi thì phần vỏ quả chiếm khoảng 20-30% khối lượng của quả cam và là phụ phẩm chính từ quá trình chế biến của loại quả này. Vỏ cam sành mặc dù ít được sử dụng nhưng chúng có chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học, có lợi cho sức khỏe con người như tinh dầu, flavonoid, polyphenol. Vỏ cam sành Việt Nam chủ yếu bao gồm tinh dầu nằm trong lớp vỏ ngoài giống như các loại trái cây có múi khác thuộc chi *Citrus*: limonene, pinene,  $\beta$ -myrcene,  $\gamma$ -terpinene,... và đặc biệt là thymol, o-cymene, caryophyllene, trans-

$\alpha$ -bergamotene, caryophyllene oxide [1-4]. Bên cạnh đó, còn chứa các sắc tố thuộc nhóm flavonoid. Cơ cấu thành phần flavonoid của vỏ cam chủ yếu gồm hesperidin, hesperetin, naringin, tangeretin và nobiletin [7].

Vỏ cam, quýt chứa một nguồn polyphenol quý giá đã được nhiều công bố cho thấy rằng chúng có tác dụng chống sự tăng đường huyết [8]. Flavonoid của họ cam quýt bao gồm hesperidin, neohesperidin và naringin được chiết xuất từ phần vỏ xanh và vỏ trắng đã thể hiện tác dụng chống sự tăng đường huyết ở tế bào HepG2 [9]. Theo Li *et al.* [10] vỏ cam, quýt thể hiện nhiều hoạt tính sinh học như kháng oxy hóa, chống viêm,

chống ung thư, chống huyết khối, hạ huyết áp, trị đái tháo đường và các đặc tính chống xơ vữa động mạch. Phụ phẩm từ vỏ quả cam có thể là một nguồn cung cấp các hợp chất polyphenols, vì chúng chứa nhiều flavonoid và polyphenol tự nhiên cao hơn so với các phần ăn được [11].

Chế biến trà túi lọc từ vỏ cam sành (*Citrus reticulata*) nhằm nâng cao giá trị sử dụng của nguồn phụ phẩm quan trọng này với ưu điểm dễ sử dụng và bảo quản [12]. Tuy có các công trình nghiên cứu về

thành phần hóa học và quá trình chiết xuất vỏ cam sành của Việt Nam [1-6] và cam sành trên thế giới [13-17], vẫn chưa có nhiều công bố về hoạt tính sinh học từ dịch trà vỏ cam được nghiên cứu. Do đó, việc xác định hàm lượng các hợp chất có tính sinh học (polyphenol tổng, flavonoid tổng) và đánh giá khả năng kháng oxy hóa, chống viêm, ức chế enzyme của dịch trích ly trà vỏ cam sành được công bố mở ra một hướng khai thác phụ phẩm nâng cao giá trị của kinh tế tuần hoàn trong sản xuất Cam sành.

## II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu

Cam sành được thu mua tại vườn trồng thuộc quận Cái Răng, thành phố Cần Thơ. Trái cam được thu hoạch có kích cỡ tương đối đồng đều, nguyên vẹn và không bị sâu bệnh. Cam được thu hái trong buổi sáng và xử lý trong ngày. Phần vỏ ngoài của quả được tách để làm trà [12]. Các phần còn lại của trái được sử dụng cho nghiên cứu khác.

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 03 đến tháng 06 năm 2024 tại Phòng thí nghiệm Hoạt chất sinh học thuộc Trung tâm Ứng dụng tiến bộ Khoa học và Công nghệ Cần Thơ trên các thiết bị như: tủ sấy (Memmert, Đức), máy ly tâm (Labnet, USA), máy đo quang phổ hấp thụ UV-VIS (Thermo Scientific, USA), máy cô

quay chân không (MRC, Israel) và các thiết bị khác.

Các loại hóa chất sử dụng bao gồm: gallic acid, quercetin, thuốc thử Folin - Ciocalteu (Sigma Aldrich, Đức), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Tokyo Chemical Industry, Nhật Bản), 2,2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) (Sigma Aldrich, Đức), 2,4,6-tripirydyl-s-triazine (TPTZ) (Sigma Aldrich, Đức), ethanol tuyệt đối (Cemaco, Việt Nam),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ,  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{AlCl}_3$  (Xilong Scientific, Trung Quốc), albumin huyết thanh bò (BSA) (Himedia, Ấn Độ), enzyme  $\alpha$ -amylase (Cool Chemical, Trung Quốc) và một số hóa chất khác.

### 2.2. Phương pháp chế biến trà từ vỏ cam sành và dịch trích ly từ trà vỏ cam sành

Trà vỏ cam sành được chuẩn bị theo quy trình được mô tả bởi Nguyễn Văn Mười [12]. Vỏ cam tươi (gồm cả phần xanh và phần trắng với tỷ lệ 1:1), được cắt lát trung bình 1-2 mm, chần trong nước sôi ( $100^\circ\text{C}$ , 120 giây) và làm nguội nhanh bằng nước lạnh. Ngâm muối để loại bỏ chất gây đắng (tỷ lệ vỏ cam/ $\text{NaCl}$  10% (w/v) là 1/5, ngâm trong 30 phút). Tiếp

tục ngâm trong dung dịch  $\text{CaCl}_2$  1% (w/v) trong 30 phút, sau đó xả lại bằng nước sạch. Mẫu sau khi ngâm xả đắng được chuyển qua thiết bị sấy đối lưu ở nhiệt độ  $50\pm 2^\circ\text{C}$ , độ ẩm sau khi sấy còn 60% trước khi chuyển qua sao để làm khô, tạo sản phẩm trà. Quá trình sao khô được tiến hành ở nhiệt độ  $120\pm 2^\circ\text{C}$  đến khi độ ẩm giảm còn 8%, đảo trộn làm nguội trước

khi chuyển sang nghiền, đóng gói tạo trà túi lọc.

Trích ly dịch trà: Mẫu trà sau khi sao khô sẽ được xay mịn thành bột. Bột trà được cho vào trong túi vải và ngâm dầm

trong ethanol 96%. Mẫu được ngâm 3 lần, mỗi lần ngâm khoảng 24 giờ, dịch trích ly từ các lần ngâm được gom lại, tiến hành cô quay chân không ở 40°C để loại dung môi và thu nhận dịch trích ly.

**2.3. Phân tích định tính một số hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học của dịch trích ly trà vỏ cam sành**

Phương pháp định tính dựa vào các phản ứng màu được thực hiện theo mô tả

trong Bảng 1 [18]. Các loại dịch trích ly được thực hiện ở nồng độ 100 mg/mL.

**Bảng 1.** *Phương pháp định tính một số hợp chất có hoạt tính sinh học*

Hợp chất	Cách tiến hành	Hiện tượng quan sát
Alkaloid	0,5 mL mẫu + 3-4 giọt thuốc thử Wagner	Màu nâu đỏ
Flavonoid	0,5 mL mẫu + 3-4 giọt NaOH 1%	Màu vàng đến đỏ cam
Phenolic	0,5 mL mẫu + 3-4 giọt FeCl <sub>3</sub> 10%	Tủa màu xanh đen hoặc đỏ cam
Saponin	0,5 mL mẫu + 5 mL nước cất + 3-4 giọt ethanol 99%, lắc mạnh và để yên 15 phút	Bọt trắng bền vẫn còn sau khi để yên 15 phút
Terpenoid	0,5 mL mẫu + 1 mL CHCl <sub>3</sub> + 2-3 giọt H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> đđ	Màu đỏ đậm, xanh, xanh tím
Tannin	0,5 mL mẫu + 5 giọt Gelatin 1%	Kết tủa bông trắng

**2.4. Phân tích hàm lượng polyphenol tổng**

Hàm lượng polyphenol tổng được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu với một số điều chỉnh [19]. Cho 0,1 mL dung dịch mẫu phản ứng với 1,5 mL thuốc thử Folin – Ciocalteu 10% và để yên trong 5 phút. Sau đó, 4 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% được thêm vào và 4,4 mL nước cất để điều chỉnh thể tích cuối cùng là 10 mL.

Hỗn hợp được giữ trong bóng tối 30 phút. Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 738 nm. Hàm lượng polyphenol tổng số được tính dựa vào đường chuẩn của gallic acid ở dãy nồng độ từ 10-100 µg/mL và được biểu thị bằng miligam tương đương gallic acid/g.

**2.5. Phân tích hàm lượng flavonoids tổng**

Hàm lượng flavonoid tổng số có trong dịch trích ly được xác định theo phương pháp của Bag *et al.* [20] có hiệu chỉnh. Hút 1000 µL dung dịch mẫu có nồng độ 1 mg/mL vào ống nghiệm tiếp tục thêm vào 1000 µL nước cất và 200 µL dung dịch NaNO<sub>2</sub> 5% để yên trong 5 phút. Thêm tiếp vào hỗn hợp dung dịch 200 µL AlCl<sub>3</sub> 10% để yên trong 6 phút. Sau đó

2000 µL NaOH 1 M được thêm vào dung dịch và tiếp tục thêm vào 600 µL nước cất để thể tích cuối trong ống nghiệm có được là 5 mL. Sau đó các mẫu được tiến hành đo ở bước sóng 510 nm. Dựa vào kết quả OD và đường chuẩn với quercetin (nồng độ từ 10 đến 100 µg/mL) để tính toán hàm lượng flavonoid tổng có trong dịch trích.

## 2.6. Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa *in vitro*

### 2.6.1. Phân tích hoạt tính trung hòa gốc tự do 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

Hoạt tính khử gốc tự do DPPH được xác định theo mô tả của Ye *et al.* [21] có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 200  $\mu\text{L}$  dịch trích ở các nồng độ khác nhau được trộn với 1 mL DPPH 0,1 mM và lắc

đều. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong tối 30°C trong thời gian 30 phút. Độ hấp thụ đo ở bước sóng 517 nm. Acid ascorbic được sử dụng làm đối chứng dương.

### 2.6.2. Phân tích hiệu quả trung hòa gốc tự do ABTS<sup>+</sup>

Khả năng kháng oxy hóa ABTS<sup>+</sup> được tiến hành theo phương pháp của Nenadis *et al.* [22] có hiệu chỉnh. Dựa trên nguyên tắc khi cho các chất kháng oxy hóa vào dung dịch ABTS<sup>+</sup> khử ion ABTS<sup>+</sup> thành ABTS, dung dịch sẽ mất màu xanh. Thuốc thử ABTS được chuẩn

bị bằng cách trộn 2,0 mL dung dịch ABTS 7 mM và 2,0 mL dung dịch potassium persulfate 2,45 mM. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách cho 10  $\mu\text{L}$  dung dịch mẫu vào (990  $\mu\text{L}$ ) gốc tự do ABTS<sup>+</sup>. Tiến hành trộn đều mẫu trong 6 phút, độ hấp thụ đo ở bước sóng 734 nm.

### 2.6.3. Phân tích năng lực khử sắt FRAP

Khả năng khử sắt FRAP được thực hiện theo phương pháp của Benzie & Strain [23] đã được Rufino *et al.* [24] điều chỉnh. Nguyên tắc của phương pháp này dựa trên việc giảm phức hợp ferric-tripyridyltriazin. Thuốc thử FRAP bao gồm 300 mmol/L dung dịch acetate buffer, pH 3,6; 10 mmol/L TPTZ (2,4,6-

tripyridyl-s-triazine) trong 40 mmol/L HCl; 20 mmol/L FeCl<sub>3</sub>. Ủ thuốc thử ở 37°C trong 30 phút. Dung dịch FRAP (980  $\mu\text{L}$ ) và 20  $\mu\text{L}$  dung dịch mẫu được trộn với nhau. Ủ mẫu trong điều kiện tối ở 37°C trong 30 phút. Mật độ quang được xác định ở bước sóng 593 nm.

## 2.7. Khảo sát hoạt tính chống viêm *in vitro*

Khả năng chống viêm được khảo sát thông qua hoạt động ức chế sự biến tính protein theo phương pháp của Shah *et al.* [25] có hiệu chỉnh. Dịch trích ly được hòa tan trong dimethyl sulfoxide (DMSO) 5% và pha loãng với dung dịch đệm phosphate (0,2 M; pH = 7,4). Hỗn hợp phản ứng gồm 1 mL dịch trích ly (ở các nồng độ: 0, 50, 100, 200, 400 và 800

$\mu\text{g/mL}$ ) được trộn với 1 mL dung dịch BSA 5%. Sau đó, hỗn hợp được ủ ở 27°C trong 15 phút. Sự biến tính protein được gây ra bằng cách giữ hỗn hợp phản ứng ở 60°C trong 10 phút. Sau khi làm mát, tiến hành đo mật độ quang tại bước sóng 660 nm. Diclofenac được sử dụng như đối chứng dương.

## 2.8. Khảo sát khả năng ức chế enzyme $\alpha$ -amylase *in vitro*

Khả năng ức chế sự thủy phân tinh bột của enzyme  $\alpha$ -amylase bởi dịch trích ly được thực hiện theo phương pháp của Đái Thị Xuân Trang và cs. [26] có điều chỉnh.

Hỗn hợp phản ứng gồm 50  $\mu\text{L}$  dung dịch đệm phosphate (0,2 M, pH = 7,0) với 50  $\mu\text{L}$  dịch trích ly và 50  $\mu\text{L}$  enzyme  $\alpha$ -amylase (3 U/mL) được đem ủ ở nhiệt độ

37°C trong 5 phút. Sau đó, 50 µL tinh bột (2 mg/mL) được cho vào hỗn hợp trên và tiếp tục ủ ở 37°C trong 15 phút. Tiếp theo, 200 µL dung dịch HCl đậm đặc được thêm vào để ngừng phản ứng. Cuối cùng, 300 µL dung dịch thuốc thử iod 1% được

thêm vào để nhận biết lượng tinh bột còn dư sau phản ứng dựa trên phản ứng màu xanh đặc trưng. Hỗn hợp trên được đo độ hấp thụ quang phổ của phức hợp tinh bột-iod ở bước sóng 660 nm. Acarbose được sử dụng như đối chứng dương.

### 2.9. Phân tích thống kê

Số liệu thí nghiệm khảo sát được thực hiện lặp lại 3 lần. Sử dụng phần mềm Microsoft Excel để xử lý số liệu thô, tính các số liệu thống kê như giá trị trung bình.

Sử dụng phần mềm Statgraphics để phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định LSD các trung bình nghiệm thức.

## III. KẾT QUẢ

### 3.1. Kết quả định tính một số hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học trong dịch trích ly trà vỏ cam sành

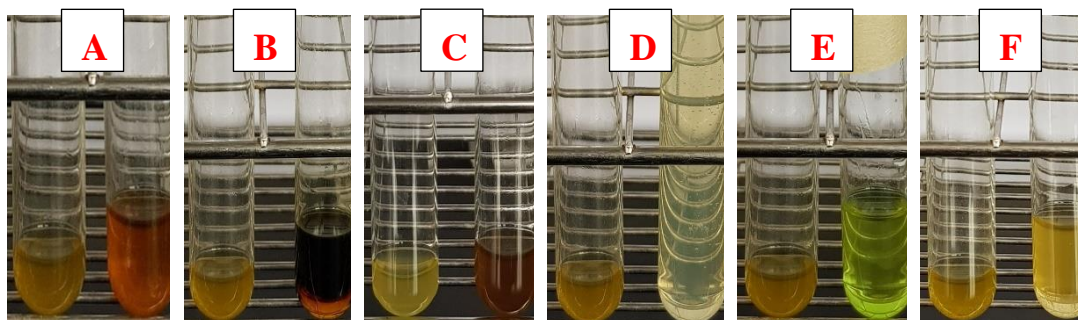
Sự hiện diện của các nhóm hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học trong dịch

trích ly trà vỏ cam sành được liệt kê trong Bảng 2.

**Bảng 2.** Kết quả định tính các hợp chất tự nhiên có trong dịch trích ly trà vỏ cam sành

Hợp chất	Alkaloid	Flavonoid	Phenolic	Saponin	Terpenoid	Tannin
Hiện diện	+	+	+	+	+	+

“+”: có sự hiện diện và “-”: không có sự hiện diện



**Hình 1.** Kết quả định tính (A) alkaloid, (B) flavonoid, (C) phenolic, (D) saponin, (E) terpenoid và (F) tannin. Theo thứ tự các ống từ trái sang phải là 1: Mẫu đối chứng; 2: Mẫu dịch trích ly + thuốc thử.

Dựa vào kết quả bảng 2 cho thấy sự hiện diện của tất cả các hợp chất được thử nghiệm bao gồm alkaloid, flavonoid,

phenolic, saponin, terpenoid và tanin với các phản ứng màu đặc trưng cho từng loại hợp chất.

### 3.2. Kết quả định lượng polyphenol tổng số và flavonoid tổng số trong dịch trích ly trà vỏ cam sành

Trong số các hợp chất thực vật có hoạt tính kháng oxy hóa và chống lão hóa được tìm thấy trong các loại trái cây có mùi thuộc họ *Rutaceae* thì polyphenol và flavonoid là các hợp chất thứ cấp được

công bố có hàm lượng đáng kể [27]. Kết quả phân tích hàm lượng polyphenol tổng số và flavonoid tổng số của dịch trích ly được trình bày ở Bảng 3.

**Bảng 3.** Hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong trà vỏ cam sành

Thành phần	Hàm lượng
Polyphenol tổng số	16,03±1,22 mg GAE/g dịch trích ly
Flavonoid tổng số	35,67±1,18 mg QE/g dịch trích ly

### 3.3. Kết quả kháng oxy hóa của dịch trích ly trà vỏ cam sành

Khả năng kháng oxy hóa của dịch trích ly trà vỏ cam sành được đánh giá dựa trên khả năng kiểm soát các gốc tự do chứa oxy hoạt động (ABTS<sup>•+</sup>), chứa nitơ hoạt động (DPPH) và các ion kim loại

chuyển tiếp (FRAP). Kết quả đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa của dịch trích ly trà vỏ cam sành được trình bày trong Bảng 4.

**Bảng 4.** Khả năng kháng oxy hóa của dịch trích ly trà vỏ cam sành bằng các phương pháp khác nhau

Phương pháp	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	
	Trà vỏ cam sành	Vitamin C
DPPH	244,70 <sup>b</sup> ±2,78	16,85 <sup>c</sup> ±0,07
ABTS	319,66 <sup>a</sup> ±2,88	40,34 <sup>a</sup> ±1,22
FRAP	228,75 <sup>c</sup> ±2,69	23,09 <sup>b</sup> ±0,05

\*Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

Kết quả trình bày ở Bảng 4 cho thấy dịch trích trà vỏ cam sành có khả năng kháng oxy hóa với giá trị IC<sub>50</sub> lớn hơn 220 µg/mL. Giá trị IC<sub>50</sub> của dịch trích ly trà vỏ cam sành cao hơn đáng kể so với đối chứng dương Vitamin C. Vitamin C cần từ 16,85 – 40,34 µg/mL để thể hiện khả

năng trung hòa 50% gốc tự do tùy theo phương pháp, trong khi đó dịch trích trà vỏ cam sành từ 228 – 319 µg/mL. So với vitamin C, dịch trích ly trà vỏ cam sành có hoạt tính kháng oxy hóa thấp hơn đáng kể.



### 3.4. Kết quả chống viêm của dịch trích ly trà vỏ cam sành

Hoạt tính chống viêm của dịch trích ly trà vỏ cam sành được khảo sát dựa trên hoạt động ức chế sự biến tính protein albumin huyết thanh bò (BSA). Kết quả

khả năng ức chế sự biến tính protein của dịch trích ly trà vỏ cam sành được trình bày trong Bảng 5.

**Bảng 5.** Hiệu suất ức chế sự biến tính protein của dịch trích ly trà vỏ cam sành

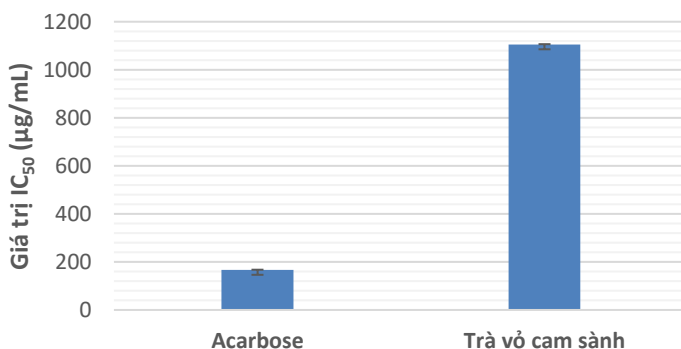
Nồng độ dịch trích ly (µg/mL)	Hiệu suất ức chế sự biến tính BSA (%)	
	Dịch trích ly trà vỏ cam sành	Diclofenac
0	-	-
50	9,84 <sup>e</sup> ±2,81	12,26 <sup>d</sup> ±2,48
100	18,65 <sup>d</sup> ±3,35	24,97 <sup>c</sup> ±1,73
200	29,76 <sup>c</sup> ±3,38	47,78 <sup>b</sup> ±1,44
400	46,70 <sup>b</sup> ±3,53	89,39 <sup>a</sup> ±1,24
800	74,56 <sup>a</sup> ±2,04	-
IC <sub>50</sub> (µg/mL)	469,79±3,16	213,61±1,85

\*Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), “-” không xác định

Khả năng ức chế sự biến tính protein của dịch trích ly trà vỏ cam sành tỷ lệ thuận với nồng độ, tăng từ 9,84±2,81% ở nồng độ 50 µg/mL lên 74,56±2,04% ở nồng độ 800 µg/mL. Khả năng chống viêm của dịch trích ly được so sánh với chất chuẩn diclofenac dựa vào nồng độ dịch trích ly hoặc chất chuẩn ức chế được 50% sự biến tính protein. Giá trị IC<sub>50</sub> càng thấp, khả năng ức chế sự biến tính protein

càng cao hay hoạt tính chống viêm của mẫu thử càng mạnh. Đối với protein huyết thanh bò, giá trị IC<sub>50</sub> của dịch trích ly trà vỏ cam sành và diclofenac lần lượt là 469,79±3,16 µg/mL và 213,61±1,85 µg/mL. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy, dịch trích ly trà vỏ cam sành có khả năng ức chế sự biến tính albumin huyết thanh bò thấp hơn diclofenac khoảng 2,2 lần.

### 3.5. Kết quả ức chế enzyme α-amylase của dịch trích ly trà vỏ cam sành



**Hình 2.** Khả năng ức chế 50% enzyme α-amylase của dịch trích ly trà vỏ cam sành

\*Giá trị IC<sub>50</sub> càng cao cho khả năng ức chế enzyme càng thấp



Một vài nghiên cứu cho thấy đường huyết sau bữa ăn được kiểm soát bằng cách ức chế enzyme thủy phân tinh bột và hấp thu glucose như enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase [23]. Tác dụng hạ đường huyết *in vitro* nhằm ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase của dịch trích ly trà vỏ cam sành đã được đánh giá, kết quả được trình bày ở Hình 2.

Khả năng ức chế  $\alpha$ -amylase được tính dựa vào sự chênh lệch lượng tinh bột ban đầu và lượng tinh bột còn lại sau phản ứng

thủy phân để đánh giá mức độ thủy phân của  $\alpha$ -amylase. Lượng tinh bột còn lại sau phản ứng càng nhiều thì khả năng ức chế  $\alpha$ -amylase càng mạnh. Kết quả  $IC_{50}$  (nồng độ dịch trích ly có khả năng ức chế 50%) của dịch trích ly trà vỏ cam sành cho thấy mẫu có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase với giá trị  $IC_{50}$  là  $1105,26 \pm 1,32$   $\mu\text{g/mL}$  cao hơn chất chuẩn acarbose là  $166,33 \pm 1,24$   $\mu\text{g/mL}$ . So với chất chuẩn acarbose, tác dụng ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase của dịch trích trà vỏ cam sành vẫn thấp hơn rất nhiều.

## IV. BÀN LUẬN

Kết quả định tính các nhóm hợp chất tự nhiên đã xác định 6 nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học khác nhau trong trà vỏ cam sành tại Cần Thơ, Việt Nam. Kết quả này phù hợp với các công bố trước đây khi xác định sơ bộ các hợp chất thực vật phổ biến trong chi *Citrus* [1-6, 13-17, 28-32]. Tuy nhiên, vẫn có sự khác nhau về kết quả định tính so với các nghiên cứu khác [5, 14]. Điều này được cho là do quá trình chiết xuất sử dụng các loại dung môi khác nhau dẫn đến thu nhận các hợp chất khác nhau. Khả năng nhận diện các hợp chất bị ảnh hưởng rất nhiều bởi tính chất của dung môi chiết xuất (phụ thuộc vào độ phân cực của chúng). Ngoài ra, sự khác biệt về thành phần hóa học của các hợp chất có trong vỏ cam có thể là do sự khác biệt về các yếu tố di truyền giữa các giống và loài, các yếu tố môi trường như đất trồng, phương pháp canh tác, giai đoạn trưởng thành hoặc điều kiện thời tiết [33]. Alkaloid được công bố là nhóm chất có hoạt tính chống viêm, kháng virus, kháng ung thư và kháng khuẩn [34]. Saponin cũng được ghi nhận là làm giảm sự hấp thu glucose và mức cholesterol trong máu [28]. Ngoài ra, tannin được phát hiện có tác dụng ức chế hoạt động của các enzyme tiêu hóa hoặc ngăn ngừa

quá trình stress oxy hóa [35]. Hơn nữa, vỏ trái cây có múi chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học bao gồm các hợp chất phenolic (flavonoid, acid phenolic và coumarin) [36], terpenoid (limonoid và carotenoids) [37]. Pentamethoxyflavone, một chất thuộc nhóm flavonoid, chiếm khoảng 10,66% hàm lượng có trong tinh dầu vỏ quả cam sành được trồng tại An Giang được công bố bởi Phạm Thị Kim Phượng [3]. Những hợp chất này đều có khả năng chống béo phì, chống đái tháo đường, kháng ung thư, chống viêm loét, chống mất trí nhớ, kháng khuẩn, kháng nấm và kháng virus [38, 39]. Nghiên cứu của Phạm Thị Kim Phượng và cs. [1] cho thấy hàm lượng thymol, một chất thuộc nhóm terpenoid, chiếm khoảng 54,5% trong thành phần tinh dầu của vỏ quả cam sành được trồng tại Đồng Tháp. Limonene, một chất thuộc nhóm monoterpene, được tìm thấy trong tinh dầu vỏ quả cam *Citrus sinensis* được trồng tại Bến Tre có hàm lượng rất cao (98,34%) [2]. Tương tự, trong nghiên cứu của Duyen *et al.* [4] cho thấy thành phần limonene là chủ yếu (chiếm 90,42%) trong tinh dầu vỏ quả cam sành trồng tại Cần Thơ. Các chất này có nhiều tác dụng sinh học mạnh như kháng ung thư, chống

dị ứng, kháng khuẩn và kháng oxy hóa [40].

Trà vỏ cam sành trong nghiên cứu này có hàm lượng polyphenol tổng và hàm lượng flavonoid tổng cao. Kết quả phân tích này phù hợp với nghiên cứu của Lưu Minh Châu và cs. [5] khi tiến hành khảo sát trên các giống cam sành (*Citrus nobilis*) trồng tại Bến Tre, Tiền Giang và Trà Vinh, kết quả ghi nhận hàm lượng polyphenol tổng trong dịch chiết vỏ quả dao động trong khoảng 18,80 - 22,96 mg GAE/g dịch trích ly; hàm lượng flavonoid tổng dao động trong khoảng 20,56 - 54,83 mg QE/g dịch trích ly. Trong khi đó, hàm lượng polyphenol và flavonoid trong các công bố khác có sự khác biệt so với nghiên cứu của chúng tôi. Nghiên cứu của Mai Thành Thái và cs. [6] khi tiến hành khảo sát vỏ quả cam sành (*Citrus nobilis* L. Osbeck) ở các nhóm khác nhau trồng tại Vĩnh Long, kết quả cho thấy hàm lượng polyphenol tổng của 4 mẫu vỏ cam nằm trong khoảng từ 5,32 - 7,83 mg GAE/g CKNL. Về hàm lượng flavonoid tổng, giá trị này trong 4 mẫu vỏ cam dao động từ 18,78 đến 26,63 mg QE/100 g CKNL. Nghiên cứu của Chen *et al.* [41] khi tiến hành đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa và chống viêm của vỏ cam *Citrus reticulata*, kết quả đã xác định hàm lượng polyphenol tổng dao động từ 42 - 51,8 mg GAE/g dịch trích ly, đồng thời ghi nhận hàm lượng flavonoid tổng dao động từ 14 - 31,9 mg QE/g dịch trích ly. Ghasemi *et al.* [42] khi tiến hành khảo sát trên vỏ của 13 giống cam quýt thuộc chi *Citrus* công bố rằng hàm lượng polyphenol tổng dao động từ 104,2 - 223,2 mg GAE/g bột và hàm lượng flavonoid tổng dao động từ 0,3 - 31,1 mg QE/g bột. Hiri *et al.* [15] đã công bố thành phần và hàm lượng flavonoid tổng ( $2,685 \pm 0,062$  g/100 g trọng lượng khô) có trong vỏ cam *Citrus sinensis*, trong đó có 2 nhóm chất chủ yếu

là flavanone và polymethoxylated flavones. Flavanone chiếm 93,22% hàm lượng bao gồm 6 chất: eriocitrin, narirutin, naringin, hesperidin, neohesperidin, didymine. Polymethoxylated flavones chiếm 6,78% hàm lượng bao gồm 4 chất: sinensetin, tangeretin, nobiletin và hexamethoxyflavone. Các nghiên cứu trên đã xử lý mẫu bằng cách sấy đông khô và bảo quản lạnh [15, 41, 42]. Trong khi đó, mẫu trong nghiên cứu này lại được sấy khô và chiết xuất bằng ethanol. Điều này có thể dẫn đến sự tổn thất hàm lượng polyphenol và flavonoid có trong vỏ cam sành do sự thất thoát một số hợp chất dễ bay hơi được gây ra bởi nhiệt như tinh dầu.

Hoạt tính kháng oxy hóa của thực vật chủ yếu được đóng góp bởi các hợp chất có hoạt tính sinh học chứa trong chúng. Cụ thể, khả năng kháng oxy hóa của dịch trích ly trà vỏ cam sành trong cơ chế loại bỏ các gốc tự do của DPPH, ABTS và khả năng khử sắt FRAP phụ thuộc theo nồng độ dịch trích ly (Bảng 4) và hàm lượng các hợp chất tự nhiên đã khảo sát (Bảng 3). Kết quả nghiên cứu cho thấy, dịch trích ly sở hữu khả năng kháng oxy hóa chính là nhờ vào sự hiện diện của các hợp chất tự nhiên, mà chủ yếu là polyphenol và flavonoid đã được xác định ở trên. Khả năng oxy hóa khử cho phép các hợp chất polyphenol và flavonoid hoạt động như một chất khử cung cấp hydro và làm ngừng hoạt động của các gốc oxy tự do [43, 44]. Kết quả này cao hơn so với nghiên cứu của Lưu Minh Châu và cs. [5] khi đánh giá hoạt động chống oxy hóa trên các giống cam sành (*Citrus nobilis*) trồng tại Bến Tre, Tiền Giang và Trà Vinh, kết quả ghi nhận giá trị IC<sub>50</sub> (theo phương pháp DPPH) của dịch chiết các vỏ quả dao động trong khoảng 2.431,2 - 3.813,7 µg/mL. Sự khác biệt trong hoạt động

chống oxy hóa có thể được gây ra do các yếu tố di truyền, điều kiện khí hậu, canh tác, giai đoạn trưởng thành hoặc quá trình bảo quản sau thu hoạch [45]. Bên cạnh đó, sự tương tác giữa các polyphenol trong vỏ của mỗi giống cam có thể thúc đẩy các hiệu ứng hiệp đồng trong hoạt động chống oxy hóa, trong đó sự tương tác mạnh giữa các thành phần polyphenol có thể dẫn đến hiệu ứng khử gốc tự do tốt hơn [46]. Moosavy *et al.* [29] công bố rằng khả năng kháng oxy hóa mạnh của vỏ cam chanh thuộc chi *Citrus* được phân tích có liên quan đến sự hiện diện của hợp chất monoterpene, đặc biệt là limonene và  $\gamma$ -terpinene có trong tinh dầu vỏ quả. Ngoài ra, nghiên cứu của Hsouna *et al.* [30] cho rằng sự hiện diện của các chất 1,8-cineol,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene và limonene có trong tinh dầu vỏ chanh *Citrus limon* có thể hoạt động như các tác nhân thu dọn gốc tự do hiệu quả. Với một dịch chiết được trích ly từ thực vật, hiệu quả ức chế 50% các gốc tự do nằm trong khoảng 200-300  $\mu\text{g/mL}$  chỉ được xem như có hiệu quả ức chế ở mức trung bình [47].

Mối tương quan tích cực giữa hàm lượng polyphenol và flavonoid trong chiết xuất thực vật và hoạt tính kháng oxy hóa cũng được quan sát thấy trong các nghiên cứu khác [44]. Dixon *et al.* [48] chứng minh rằng các chất kháng oxy hóa có nguồn gốc thực vật, đặc biệt là polyphenol và flavonoid, được xem là những chất có khả năng kháng ung thư, kháng đái tháo đường, kháng oxy hóa và phòng chống các bệnh tim mạch. Nghiên cứu của Sun *et al.* [49] cho rằng polyphenol chịu trách nhiệm chủ yếu cho hoạt động kháng oxy hóa của các loại trái cây họ cam quýt. Azman *et al.* [50] công bố rằng vitamin C là một chất kháng oxy hóa mạnh, có tác dụng loại bỏ gốc tự do rất cao. Hoạt tính kháng oxy hóa của dịch

trích ly trà vỏ cam sành thấp hơn so với vitamin C có thể được cho là do độ tinh khiết của các hoạt chất có tính sinh học trong vỏ cam sành không cao vì trong vỏ cam sành không chỉ chứa những chất kháng oxy hóa như flavonoid, polyphenol mà còn các hợp chất khác như cellulose, hemicellulose, đường hòa tan và limonene, làm giảm hiệu quả kháng oxy hóa của sản phẩm [31].

Hiện nay chưa có nghiên cứu về hoạt động chống viêm của dịch trích ly trà vỏ cam sành được công bố. Kết quả nghiên cứu cho thấy, dịch trích ly trà vỏ cam sành có khả năng chống viêm thông qua khả năng ức chế sự biến tính protein tương tự như một số dịch trích ly được chiết xuất từ một số loài thực vật khác. Bằng chứng chỉ ra rằng đặc tính chống viêm được đặc trưng bởi sự hiện diện của các hợp chất tự nhiên như polyphenol, flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, steroid và tannin [51]. Các hợp chất tự nhiên này hoạt động bằng cách ức chế các chất trung gian đóng vai trò chính trong việc ngăn ngừa tình trạng viêm, vì các cytokine gây viêm tạo ra sự tổng hợp cyclooxygenase-2 (COX-2) và prostaglandin E2, có vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của các bệnh viêm [52]. Các hợp chất phenolic có trong thực vật được phát hiện có hoạt tính chống viêm mạnh cũng đã được công bố bởi Roy *et al.* và Garg *et al.* [53, 54]. Lee *et al.* [55] đã công bố rằng flavonoid họ cam quýt có khả năng ức chế kinase và phosphodiesterase cần thiết cho quá trình truyền tín hiệu, kích hoạt tế bào và ức chế các tế bào liên quan đến tình trạng viêm và phản ứng miễn dịch. Tác dụng chống viêm của triterpenes được cho là do nhiều cơ chế khác nhau bao gồm ức chế hoạt động của lipoxygenase và cyclooxygenase [56]. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh các hợp chất monoterpene,

chẳng hạn như borneol, citral và geraniol, thể hiện hoạt tính chống viêm bằng cách ức chế việc sản sinh nitric oxide (NO) và các cytokine tiền viêm bởi kích thích lipopolysaccharide (LPS) [57, 58]. Nghiên cứu của Yang *et al.* [32] cho thấy tác dụng chống viêm của 7 hợp chất tự nhiên:  $\alpha$ -pinene, myrcene, D-limonene,  $\beta$ -ocimene, linalool, linalool oxide, và  $\alpha$ -terpineol có trong vỏ quả của 21 giống cây có múi thuộc chi *Citrus*, trong đó  $\alpha$ -terpineol đã thể hiện tác dụng chống viêm vượt trội so với các chất khác. Ngoài ra, còn có các công bố về vai trò của tannin, phytosterol, alkaloid trong các hoạt động giảm đau và chống viêm [59-61]. Do đó, tác dụng giảm đau và chống viêm của dịch trích ly trà vỏ cam sành tạo ra có thể được quy cho riêng lẻ hoặc kết hợp với các hợp chất tự nhiên trên.

Kết quả phân tích cho thấy dịch trích ly trà vỏ cam sành có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase. Sự ức chế enzyme tiêu hóa như  $\alpha$ -amylase gây ra sự giảm quá trình thủy giải carbohydrate, dẫn đến giảm sự hấp thụ glucose cũng như làm giảm lượng đường huyết đang tăng cao [62, 63]. Tác dụng ức chế được cho là do sự hiện diện của các hợp chất có hoạt tính sinh học trong chiết xuất, đặc biệt là flavonoid [63-65]. Về mặt cấu trúc hóa học, vị trí và số lượng các nhóm hydroxyl trong các hợp chất tự nhiên này rất quan trọng đối với khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase. Khả năng này tăng đáng kể theo số lượng nhóm hydroxyl trên vòng B của hợp chất. Flavonoid tạo ra tác dụng ức chế bằng cách hình thành liên kết hydro giữa các nhóm hydroxyl của flavonoid và các nhóm hydroxyl của enzyme ở các chuỗi bên hoạt động của các amino acid chức năng (FAAs) và hình thành hệ thống  $\pi$  liên hợp giữa hệ thống vòng AC của

flavonoid và indole Trp59 trong enzyme. Do đó, phản ứng giữa  $\alpha$ -amylase và tinh bột sẽ bị cản trở, dẫn đến làm chậm quá trình tiêu hóa tinh bột [66]. Khả năng ức chế enzyme này có mối tương quan tích cực với hàm lượng polyphenol và flavonoid của dịch trích ly. Trong nghiên cứu này, hiệu quả ức chế enzyme tiêu hóa như  $\alpha$ -amylase chỉ ở mức trung bình, thấp hơn với kết quả của các nghiên cứu khác. Những chất càng giàu polyphenol và flavonoid thì tác dụng ức chế enzyme càng mạnh [67, 68]. Muhtadi *et al.* [16] cũng lưu ý rằng các hợp chất flavonoid bao gồm naringin và hesperidin trong vỏ cam có tác dụng điều trị bệnh tiểu đường. Saponin có trong dịch trích ly vỏ bưởi *Citrus maxima* cũng được ghi nhận là làm giảm sự hấp thụ glucose và mức cholesterol trong máu [26]. Hoạt tính ức chế  $\alpha$ -amylase cũng liên quan đến hợp chất terpenoid, trong đó oleanane, ursane và lupane là các chất có khả năng ức chế các enzyme tiêu hóa [69]. Lupeol, một chất thuộc nhóm terpenoid có trong tinh dầu vỏ cam *Citrus macroptera* được chứng minh là có khả năng ức chế  $\alpha$ -amylase đã được công bố bởi Chowdhury *et al.* [17]. Tác dụng ức chế của hợp chất này có thể là do tác động của nó lên các vùng liên kết carbohydrate của enzyme  $\alpha$ -amylase xúc tác thủy phân các liên kết  $\alpha$ -1,4-glycosidic bên trong tinh bột và các polysaccharides liên quan khác cũng đã được nhắc đến để ức chế sự tăng đường huyết sau bữa ăn [70]. Vì vậy, việc phát hiện tác dụng ức chế của enzyme này trong thí nghiệm *in vitro* có thể là bằng chứng đầy hứa hẹn cho các nghiên cứu *in vivo* tiếp theo trong việc kiểm soát bệnh đái tháo đường týp 2. Trong nghiên cứu này, dịch trích ly trà vỏ cam sành cho thấy kết quả tích cực trong việc giảm thiểu hoạt động của enzyme  $\alpha$ -amylase.

## V. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy rằng các hợp chất có hoạt tính sinh học như alkaloid, flavonoid, phenolic, saponin, terpenoid và tanin đều được tìm thấy trong dịch trích ly trà vỏ cam sành trồng tại Cần Thơ, Việt Nam. Dịch trích ly trà vỏ cam sành chứa nhiều polyphenol ( $16,03 \pm 1,22$  mg GAE/g dịch trích) và flavonoid ( $35,67 \pm 1,18$  mg GAE/g dịch trích) và chúng thể hiện các hoạt tính kháng oxy hóa trong các thử nghiệm DPPH, ABTS và FRAP với các giá trị

IC<sub>50</sub> tương ứng là  $244,70 \pm 2,78$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $319,66 \pm 2,88$   $\mu\text{g/mL}$  và  $228,75 \pm 2,69$   $\mu\text{g/mL}$ . Dịch trích ly trà vỏ cam sành cũng thể hiện hoạt tính chống viêm *in vitro*, và ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase (hỗ trợ hạ đường huyết) khá tốt. Sự biểu hiện các hoạt tính này là do dịch trích có chứa nhiều hợp chất tự nhiên có tác dụng sinh học cao như polyphenol và flavonoid. Từ các kết quả phân tích cho thấy trà vỏ cam sành có thể được sử dụng như sản phẩm hỗ trợ sức khỏe cho con người.

**Lời cảm ơn:** Nhóm nghiên cứu trân trọng cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ thành phố Cần Thơ hỗ trợ kinh phí thực hiện nghiên cứu này.

## Tài liệu tham khảo

1. Phạm Thị Kim Phượng, Nguyễn Bá Trung, Nguyễn Thị Ngọc Hân, Nguyễn Hữu Nghi, Lê Thị Thanh Xuân. Nghiên cứu thành phần hóa học tinh dầu vỏ quả cam sành (*Citrus nobilis*), Chóc (*Citrus hystrix*) và Chanh tây (*Citrus limon*). *Tạp chí Công thương*. 2020;8(358-365).
2. Tan Phat Dao, Thi Cam Quyên Ngo, Thi Kim Ngan Tran, et al. Nghiên cứu mô hình động học của quá trình chiết xuất và thành phần hóa học của tinh dầu vỏ Cam (*Citrus sinensis*). Assessing the kinetic model on extraction of essential oil and chemical composition from orange peels (*Citrus sinensis*). *Journal of Science and Technology-NTTU*. 2019;8:19-25.
3. Phạm Thị Kim Phượng. So sánh thành phần hóa học cao Ethanol, Chloroform và tinh dầu vỏ cam sành quả (*Citrus Nobilis*) - Comparison of high chemical composition Ethanol, Chloroform and essential oils of orange peel (*Citrus Nobilis*). *Journal of Educational Equipment: Applied research*. 2022;2:94-97.
4. Ly Thi Thuy Duyen, Khong Hoang Thang, Luu Minh Chau, et al. Extraction and evaluation of antimicrobial activities of essential oils from orange peel (*Citrus nobilis*) grown in Can Tho City, Vietnam. *Ciência Rural, Santa Maria*. 2024;54:05, e20230240.
5. Lưu Minh Châu, Bùi Thị Ngọc Bích, Thái Dương Ngọc Duyên, và cs. Xác định hàm lượng phenolic, flavonoid và khả năng chống oxy hóa của quả cam sành (*Citrus nobilis*). *TNU Journal of Science and Technology*. 2023;228(13):374 - 382.
6. Mai Thành Thái, Tô Nguyễn Phước Mai, Nguyễn Văn Mươi. Tính chất hóa lý và các hợp chất sinh học của quả cam sành được trồng tại Vĩnh Long. *Tạp Chí Công Thương*. 2022;22.
7. Pereira RMS, López BGC, Diniz SN, et al. Quantification of Flavonoids in Brazilian Orange Peels and Industrial Orange Juice Processing Wastes. *Agricultural Sciences*. 2017;8:631-644.
8. Fayek NM, El-Shazly AH, et al. Comparative study of the hypocholesterolemic, antidiabetic effects of four agro-waste Citrus peels cultivars and their HPLC standardization. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 27(4):488-494. doi:10.1016/j.bjp.2017.01.010.
9. Shen W, Xu Y, & Lu YH. Inhibitory effects of Citrus flavonoids on starch digestion and antihyperglycemic effects in HepG2 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60(38), 9609-9619. doi:10.1021/jf3032556.
10. Li, Shiming, Pan, Min-Hsiung, Lo, Chih-Yu, et al. Chemistry and health effects of polymethoxyflavones and hydroxylated polymethoxyflavones. *Journal of Functional*

- Foods*. 2009;1(1):2-12. doi:10.1016/j.jff.2008.09.003.
11. Gorinstein S, Martin-Belloso O, Park YS, et al. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chem*. 2001;74:309–315. doi:10.1016/S0308-8146(01)00157-1.
  12. Nguyễn Văn Mười. Nghiên cứu sản xuất sản phẩm cider và trà túi lọc từ bưởi Năm Roi và cam sành tỉnh Vĩnh Long. *Đề tài KH&CN cấp tỉnh (2021-2023)*, Trường Đại học Cần Thơ, 2023.
  13. Emojorho EE and Akubor PI. Effect of debittering methods on the proximate composition sensory and functional properties of orange (*Citrus sinensis*) seed flour. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*. 2016; 10(9):134-139.
  14. Roghini R and Vijayalakshmi K. Phytochemical screening, quantitative analysis of flavonoids and minerals in ethanolic extract of *Citrus paradisi*. *Int J Pharm Sci Res*. 2018; 9(11):4859-4864.
  15. N. M' Hiri, I. Ioannou, M. Ghoul, N. Mihoubi Boudhrioua. Proximate chemical composition of orange peel and variation of phenols and antioxidant activity during convective air drying. *Volume JS INAT*, 2015, Art 9.
  16. Muhtadi H, Haryoto H, Azizah T, et al. Antidiabetic and antihypercholesterolemic activities of *Citrus sinensis* peel: in vivo study. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*. 2015;5(5):382-385. doi: 10.5455/njppp.2015.5.2807201561.
  17. Chowdhury SA, Sohrab MH, Datta BK, Hasan CM. Chemical and antioxidant studies of *Citrus macroptera*. *Bangladesh J Sci Ind Res*, 2008; 43(4): 449-454.
  18. Nguyễn Kim Phi Nhung. Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. *Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh*, 80-147 (2007).
  19. Rebaya A, Belghith SI, Baghdikian B, et al. Total phenolic, total flavonoid, tannin content, and antioxidant capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2014;5(1):52-57.
  20. Bag GC, Devi PG, Bhaigyabati T. Assessment of total flavonoid content and antioxidant activity of methanolic rhizome extract of three *Hedychium* species of Manipur Valley. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2015; 30(1):154-159.
  21. Ye M, Ren L, WuY, Wang Y, and Liu Y. Quality characteristics and antioxidant activity of hickory black soybean yogurt. *LWT-Food Science and Technology*. 2013;51(1):314-318. doi:10.1016/j.lwt.2012.09.027.
  22. Nenadis N, Wang LF, Tsimidou M, et al. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS. + assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014; 52(15):4669-4674. doi: 10.1021/jf0400056.
  23. Benzie IF, and Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 1996;239(1):70-76.
  24. Rufino M, Alves RE, Brito ES, et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*. 2010;121(4):996-1002. doi:10.1016/j.foodchem.2010.01.037.
  25. Shah M, Parveen Z, Khan MR. Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the stem bark of *Sapindus mukorossi*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2017;17: 526.
  26. Đái Thị Xuân Trang, Bùi Tấn Anh, Trần Thanh Mến, Phạm Thị Lan Anh, 2012. Khảo sát khả năng điều trị bệnh tiểu đường của cao chiết lá Ôi (*Psidium guajava* L.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 2012, 22b: 163-171.
  27. N. Mahato, K. Sharma, M. Sinha, and M. H. Cho. Citrus waste derived nutra-/pharmaceuticals for health benefits: Current trends and future perspectives. *Journal of Functional Foods*. 2018;40:307-316.
  28. Ani PN, & Abel HC. Nutrient, phytochemical, and antinutrient composition of *Citrus maxima* fruit juice and peel extract. *Food Science & Nutrition*. 2018;6(3):653-658. doi:10.1002/fsn3.604.
  29. Moosavy MH, Hassanzadeh P, Mohammadzadeh E, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of lemon (*Citrus limon*) peel in vitro and in a food model. *Journal of Food Quality and Hazards Control*. 2017;4:42-48.
  30. Ben Hsouna, A., Ben Halima, N., Smaoui, S. et al. *Citrus lemon* essential oil: chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities with its preservative effect against *Listeria monocytogenes* inoculated in minced beef meat. *Lipids Health Dis*. 2017; 16:146. doi:10.1186/s12944-017-0487-5.
  31. Tocmo R, Pena-Fronteras J, Calumba KF, et al. Valorization of pomelo (*Citrus grandis* Osbeck) peel: a review of current utilization, phytochemistry, bioactivities, and mechanisms of action. *Comprehensive*

- Reviews in Food Science and Food Safety*. 2020;19(4):1969-2012. doi: 10.1111/1541-4337.12561.
32. Jiyeon Yang, Su-Yeon Lee, Soo-Kyeong Jang, Ki-Joong Kim and Mi-Jin Park. Anti-Inflammatory Effects of Essential Oils from the Peels of Citrus Cultivars. *Pharmaceutics*, 2023, 15(6), 1595; doi: 10.3390/pharmaceutics15061595.
33. Li Jing, Zhentian Lei, Ligai Li, Rangjin Xie, Wanpeng Xi, Yu Guan, Lloyd W Sumner, Zhiqin Zhou. Antifungal Activity of Citrus Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014;62(14).
34. Aberoumand, A. Screening of phytochemical compounds and toxic proteinaceous protease inhibitor in some lesser-known food based plants and their effects and potential applications in food. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*. 2012; 2(3):16-20.
35. Tapiero H, Tew KD, Ba GN, & Mathe, G. Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2002;56(4):200-207. doi:10.1016/S0753-3322(02)00178-6.
36. Lee GJ, Lee SY, Kang NG, and Jin MH. A multi-faceted comparison of phytochemicals in seven citrus peels and improvement of chemical composition and antioxidant activity by steaming. *LWT - Food Science and Technology*. 2022;160, 113297.
37. Huang Q, Liu J, Hu C, et al. Integrative analyses of transcriptome and carotenoids profiling revealed molecular insight into variations in fruits color of Citrus reticulata Blanco induced by transplantation. *Genomics*. 2022;114(2):110291.
38. Lv X, S. Zhao Z. Ning, et al. and Liu Y, Citrus fruits as a treasure trove of active natural metabolites that potentially provide benefits for human health. *Chemistry Central Journal*. 2015;9:1-14.
39. Singh B, Singh JP, Kaur A, and Singh N. Phenolic composition, antioxidant potential and health benefits of citrus peel. *Food Research International*. 2020;132:109114.
40. Wang CY, Chen YW, Hou CY. Antioxidant and antibacterial activity of seven predominant terpenoids *International Journal of Food Properties*. 2019;22:230-238.
41. Chen XM, Tait AR, & Kitts DD. Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food Chemistry*. 2017;218:15–21. doi:10.1016/j.foodchem.2016.09.01.
42. Kamran Ghasemi, Yosef Ghasemi, Mohammad Ali Ebrahimzadeh. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak J Pharm Sci*. 2009; 22(3):277-81.
43. Chang ST, Wu JH, Wang SY, et al. Antioxidant activity of extracts from Acacia confusa bark and heartwood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001;49:3420-3424.
44. Aryal S, Baniya MK, Danekhu K, et al. Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from Western Nepal. *Plants*. 2019; 8:96. doi: 10.3390/plants8040096.
45. Lado G J. Gambetta and L Zacarias. Key determinants of citrus fruit quality: Metabolites and main changes during maturation. *Scientia Horticulturae*. 2018; 233:238-248.
46. Lu Y, Foo LY. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*. 2001; 75(2):197-202. doi: 10.1016/S0308-8146(01)00198-4.
47. Rasheed A, and Abdul Azeez RF. A Review on Natural Antioxidants, Traditional and Complementary Medicine, Cengiz Mordeniz, *IntechOpen*. 2019; 82636.
48. Dixon RA, Xie DY, Sharma SB. Proanthocyanidins a final frontier in flavan. *New Phytol*. 2005; 165(1):9-28.
49. Sun, J., Chu, Y.-F., Wu, X., & Liu, R. H. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002; 50(25):7449-7454. doi: 10.1021/jf0207530.
50. Azman NFIN, Azlan A, Khoo HE, & Razman MR. Antioxidant properties of fresh and frozen peels of citrus species. *Current Research in Nutrition and Food Science*. 2019, 7(2), 331-339. doi:10.12944/CRNFSJ.7.2.03.
51. Bhagyasri Y, Lavakumar V, Divya SMS, Ashok KCK. An overview on anti-inflammatory activity of Indian herbal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*. 2015;4(1):1-9.
52. Saha C, Hegde P, Friboulet A, Bayry J, Kaveri SV. Viscum album - mediated COX-2 inhibition implicates destabilization of COX-2 mRNA. *PLoS One*. 2015; 10(2):e0114965.
53. Roy SP, Niranjan CM, Jyothi TM, et al. Antiulcer and anti-inflammatory activity of



- aerial parts *Encostemma littorale* Blume. *Pharmacology*. 2010;2(4):369-373.
54. Garg VKR, Jain M, Sharma PKR, Garg G. Anti-inflammatory activity of *Spinacia oleracea*. *International Journal of Pharma Professionals Research*. 2010;1(1):1-4.
55. Lee EJ, Kim DI, Kim WJ, Moon SK. Naringin inhibits matrix metalloproteinase-9 expression and AKT phosphorylation in tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced vascular smooth muscle cells. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2009;53(12):1582-1591.
56. Andrikopoulos NK, Kaloria AC, Assimopolou NA. Biological activity of some naturally occurring resins, gums and pigments against in vitro LDL oxidation. *Phytotherapy Research*. 2003;7(5):501-507.
57. Quintans JSS, et al. Monoterpenes modulating cytokines- A review. *Food Chem Toxicol*. 2019;123:233-257.
58. Silveira e Sá R, Andrade L, Sousa D. A review on anti-inflammatory activity of monoterpenes. *Molecules*. 2013;18:1227-1254.
59. Othman RA, Moghadasian MH. Beyond cholesterol-lowering effects of plant sterols: Clinical and experimental evidence of anti-inflammatory properties. *Nutrition Reviews*. 2011;69(7):371-382.
60. Kam PC, Liew S. Traditional Chinese herbal medicine and anaesthesia. *Anaesthesia* 2002;57(11):1083-1089.
61. Vanu MR, Palanivelu S, Panchanatham S. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of *Semecarpus anacardium* Linn. Nut milk extract in experimental inflammatory conditions. *Biologica and Pharmaceutical Bulletin*. 2006;29(4):693-700.
62. Sudha P, Zinjarde SS, Bhargava SY et al. Potent  $\alpha$ -amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2011; 11(1):5. doi: 10.1186/1472-6882-11-5.
63. Podsędek A, Majewska I, Redzyna M, et al. In vitro inhibitory effect on digestive enzymes and antioxidant potential of commonly consumed fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014; 62(20):4610-4617. doi: 10.1021/jf5008264.
64. Proença C, Freitas M, Ribeiro D, et al. Evaluation of a flavonoids library for inhibition of pancreatic  $\alpha$ -amylase towards a structure-activity relationship. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2019; 34(1):577-588. doi:10.1080/14756366.
65. Sahnoun M, Trabelsi S, & Bejar S. Citrus flavonoids collectively dominate the  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitions. *Biologia*. 2017;72(7):764-773.
66. Gu C, Zhang H, Putri C, Ng K. Evaluation of  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activity of Flavonoids. *Int. J. Food Sci. Nutr.*; 2015;2:1-6. doi:10.15436/2377-0619.15.042.
67. De Sousa E, Zanatta L, Seifriz I, et al. Hypoglycemic effect and antioxidant potential of kaempferol-3,7-O-( $\alpha$ -dirhamnoside from *Bauhinia forficata* leaves. *J Nat Prod*. 2004;67:829-832.
68. Hanamura T, Hagiwara T, Kawagishi H. Structural and functional characterization of polyphenols isolated from Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 2005; 69:280-286.
69. Sales PM, Souza PM, et al.  $\alpha$ -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source. *J Pharm Pharm Sci*. 2012;15(1):141-183.
70. Nizam Uddin, Md. Rakib Hasan, et al. In vitro  $\alpha$ -amylase inhibitory activity and in vivo hypoglycemic effect of methanol extract of *Citrus macroptera* Montr. fruit. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2014;4(6):473-479.